AceTaq™ DNA Polymerase

P401-d1/d2/d3

Vazyme™

Vazyme biotech co., ltd.

产品简介

AceTaq™ DNA Polymerase是经过化学修饰的Taq DNA Polymerase，在室温下活性被完全封闭，可防止在样品准备及反应升温阶段产生非特异扩增和引物二聚体。只有经过95℃加热后活性才被释放。与基于抗体的热启动Taq酶相比，AceTaq™ DNA Polymerase活性封闭更彻底，严谨性更高；与现有化学修饰的热启动Taq酶相比，AceTaq™ DNA Polymerase的激活时间只需要5分钟，兼容现有的PCR程序。

AceTaq™ DNA Polymerase配合优化的缓冲体系，可最大程度的减少非特异扩增和引物二聚体，带来最高的灵敏度，非常适合于从复杂模板（基因组，cDNA）中扩增低拷贝基因。PCR产物的3'端带A，可克隆至T载体，并适用于ClonExpress™ 快速克隆试剂盒(C111-01/02)。附带的PCR Enhancer可有助于高GC含量模板的扩增。

产品组成

组　分	P401-d1 250 U	P401-d2 (P401-d1 × 4) 1,000 U	P401-d3 (P401-d1 × 12) 3,000 U
10 × AceTaq™ Buffer (with 20 mM $MgCl_2$)	1.25 ml		
25 mM $MgCl_2$	1 ml		
dNTP Mix (10 mM each)	200 μl		
AceTaq™ DNA Polymerase (5 U/μl)	50 μl		
5 × PCR Enhancer	500 μl		
10 × Loading buffer	1.25 ml		

储存条件

-20℃保存。

单位定义

用活性化的大马哈鱼精子DNA作为模板/引物，74℃ 30分钟内，摄入10 nmol的全核苷酸为酸性不溶物的活性定义为1个活性单位（U）。

质量控制

核酸外切酶残留检测：10 U的本酶和0.6 μg λ-Hind III在74℃下孵育1小时，DNA的电泳谱带不发生变化。

核酸内切酶残留检测：10 U的本酶和0.6 μg Supercoiled pBR322 DNA在74℃下孵育1小时，DNA的电泳谱带不发生变化。

大肠杆菌残留DNA残留检测：50 μl体系中，加入2 U本酶，以ddH_2O为模板，扩增E. coli 16 s rDNA基因。35个循环后进行1%琼脂糖凝胶电泳，EB染色，无扩增条带。

功能检测：PCR体系中加入1.25 U本酶，以30 pg人基因组DNA为模板扩增α-1-antitrypsin gene。35个循环后将1/10 PCR产物走1 %琼脂糖凝胶电泳，EB染色，可见有单一的360 bp条带。

应用实例

1.反应体系配制：

ddH_2O	to 50 μl
10 × AceTaq™ Buffer (with 20 mM $MgCl_2$)	5 μl
25 mM $MgCl_2$*	optional
dNTP Mix (10 mM each)	1 μl
5 × PCR Enhancer‡	optional
模板DNA§	optional
引物1 (10 μM)	2 μl
引物2 (10 μM)	2 μl
AceTaq™ DNA Polymerase (5 U/μl)	0.25-0.4 μl

* 对于大多数PCR反应，Mg^{2+}最佳终浓度为1.5-2 mM。体系中已含有终浓度为2 mM的Mg^{2+}，如有需要，可用25 mM $MgCl_2$，以0.2-0.5 mM为间隔向上摸索Mg^{2+}浓度梯度。

‡ 推荐仅当模板GC含量>60%且优化条件也无法正常扩增时使用；可能会降低保真度。

§ 不同模板最佳反应浓度有所不同，下表为50 μl反应体系推荐模板使用量：

人基因组DNA	1～500 ng
大肠杆菌基因组DNA	1～100 ng
λ DNA	0.1～1 ng
质粒DNA	0.1～1 ng

2.PCR反应条件设置：

95℃	5 min*（预变性）	
95℃	30 sec	35 循环
55℃*	30 sec	
72℃	60 sec/kb	
72℃	7 min（彻底延伸）	

*如扩增不理想，可适当延长95℃预变性时间，最长可至10 min。

‡退火温度需要根据引物退火温度调整，一般设置成低于引物退火温度1-2℃即可。

引物设计注意事项

1. 引物3’端最后一个碱基选择C或G；
2. 引物3’端最后8个碱基应避免出现连续错配；
3. 引物3’端尽量避免发夹结构出现；
4. 引物Tm值控制在55℃-65℃之间；
5. 引物额外附加序列，即与模板非配对序列，不应参与引物Tm值计算；
6. 引物GC含量控制在40%-60%之间；
7. 正向引物和反向引物Tm值以及GC含量尽可能一致。